

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2005 年 6 月 2 日 (02.06.2005)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2005/049636 A3(51) 国際特許分類: G01N 31/00, C12Q  
1/37, G01N 27/62, 27/64, 33/483, 33/68

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/017275

(22) 国際出願日: 2004 年 11 月 19 日 (19.11.2004)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願 2003-391775  
2003 年 11 月 21 日 (21.11.2003) JP  
特願 2004-093302 2004 年 3 月 26 日 (26.03.2004) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本電気  
株式会社 (NEC CORPORATION) [JP/JP]; 〒1088001東京都港区芝五丁目 7 番 1 号 Tokyo (JP). 東京理化学  
株式会社 (TOKYO RIKAKIKAI CO., LTD.) [JP/JP];  
〒1030023 東京都中央区日本橋本町三丁目 3 番 4 号  
Tokyo (JP).

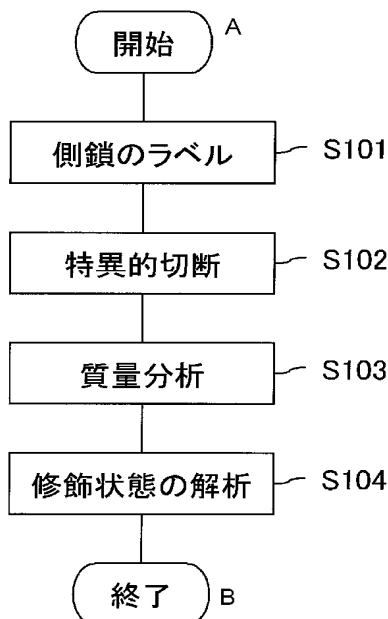
(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 次田 皓  
(TSUGITA, Akira) [JP/JP]; 〒1088001 東京都港区芝  
五丁目 7 番 1 号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP). 細  
川 桂一 (HOSOKAWA, Keiichi) [JP/JP]; 〒1030023 東  
京都中央区日本橋本町三丁目 3 番 4 号 東京理化学  
株式会社内 Tokyo (JP). 鍋谷 卓司 (NABETANI,  
Takuji) [JP/JP]; 〒1030023 東京都中央区日本橋本町  
三丁目 3 番 4 号 東京理化学株式会社内 Tokyo (JP).  
上條 憲一 (KAMIJO, Kenichi) [JP/JP]; 〒1088001 東  
京都港区芝五丁目 7 番 1 号 日本電気株式会社内  
Tokyo (JP). 斎藤 彰 (SAITO, Akira) [JP/JP]; 〒1088001  
東京都港区芝五丁目 7 番 1 号 日本電気株式会社内

[続葉有]

(54) Title: METHOD OF ANALYZING PROTEIN

(54) 発明の名称: タンパク質の分析方法



A... START  
 S101... SIDE CHAIN LABELING  
 S102... SPECIFIC CLEAVAGE  
 S103... MASS SPECTROSCOPY  
 S104... ANALYSIS OF MOIFIED CONDITION  
 B... END

(57) Abstract: The presence or absence of a modifying group or the type of the modifying group at a specific amino acid residue in a protein is conveniently determined. A protein to be analyzed is treated with a reagent capable of labeling a side chain of a specific amino acid residue. In the case where the side chain of the specific amino acid residue is unmodified, the side chain is labeled (S101). Next, the protein, in which the side chain of the specific amino acid residue has been labeled, is specifically cleaved at a definite site (S102). Subsequently, the obtained peptide fragment is subjected to mass spectroscopy (S103). Based on the molecular weight data of the fragment thus obtained, the modified state of the side chain of the specific amino acid residue in the protein to be analyzed is analyzed (S104).

(57) 要約: タンパク質の特定のアミノ酸残基の修飾の有無または修飾基の種類を簡便に決定する。分析対象のタンパク質の特定のアミノ酸残基の側鎖をラベルする試薬を作用させる。このとき、特定のアミノ酸残基の側鎖が未修飾の状態であれば、その側鎖がラベルされる (S101)。そして、特定のアミノ酸残基の側鎖がラベルされたタンパク質を、所定の位置で特異的に切断する (S102)。次いで、得られたペプチド断片を、質量分析に供する (S103)。そして、断片の分子量に関して得られた結果に基づき、分析対象のタンパク質中の特定のアミノ酸残基の側鎖の修飾状態を解析する (S104)。

WO 2005/049636 A3



Tokyo (JP). 宮崎 賢司 (MIYAZAKI, Kenji) [JP/JP]; 〒1088001 東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 速水 進治 (HAYAMI, Shinji); 〒1500021 東京都渋谷区恵比寿西2-17-16 代官山TKビル1階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,

SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
- 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部分、請求に基づき国際事務局から入手可能

(88) 国際調査報告書の公開日: 2005年7月14日

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/017275

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> G01N31/00, C12Q1/37, G01N27/62, G01N27/64, G01N33/483,  
G01N33/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> G01N31/00, C12Q1/37, G01N27/62, G01N27/64, G01N33/483,  
G01N33/68

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

|                           |           |                            |           |
|---------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| Jitsuyo Shinan Koho       | 1922-1996 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996-2005 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971-2005 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994-2005 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| A         | JP 2002-53810 A (Xerion Pharmaceuticals GmbH.),<br>24 September, 2002 (24.09.02),<br>& US 2002-0132266 A & EP 1133697 A<br>& DE 19854196 A & AU 1556700 A | 1-10                  |
| A         | JP 2002-189029 A (Sumitomo Chemical Co., Ltd.),<br>05 July, 2002 (05.07.02),<br>(Family: none)  | 1-10                  |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

|   |  |
|---|--|
| * Special categories of cited documents:  | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone   |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date   | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family  |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  |  |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed  |  |

Date of the actual completion of the international search  
27 April, 2005 (27.04.05)

Date of mailing of the international search report  
17 May, 2005 (17.05.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))  
 Int.Cl.<sup>7</sup> G01N31/00, C12Q1/37, G01N27/62, G01N27/64, G01N33/483, G01N33/68

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))  
 Int.Cl.<sup>7</sup> G01N31/00, C12Q1/37, G01N27/62, G01N27/64, G01N33/483, G01N33/68

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

|             |            |
|-------------|------------|
| 日本国実用新案公報   | 1922-1996年 |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-2005年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2005年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2005年 |

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の<br>カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示   | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|------------------|
| A               | J P 2002-53810 A (ゼリオン、ファーマスーティカルズ、ゲゼルシャフト、ミット、ベシュレンクテル、ハフツング)<br>2002.09.24<br>& US 2002-0132266 A<br>& EP 1133697 A & DE 19854196 A<br>& AU 1556700 A | 1-10             |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日  
 27.04.2005

国際調査報告の発送日 17.5.2005

国際調査機関の名称及びあて先  
 日本国特許庁 (I S A / J P)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

|                           |     |         |
|---------------------------|-----|---------|
| 特許庁審査官 (権限のある職員)          | 2 J | 9 5 0 7 |
| 竹中 靖典                     |     |         |
| 電話番号 03-3581-1101 内線 3252 |     |         |

| C (続き) . 関連すると認められる文献 |   |                  |
|-----------------------|---|------------------|
| 引用文献の<br>カテゴリ*        | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示                         | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
| A                     | JP 2002-189029 A (住友化学工業株式会社) 20<br>02.07.05<br>(ファミリーなし) | 1-10             |